Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Article
Vol. 16, No.3, 2024, p. 415-432

Investigating the Effect of Different Levels of Butyric Acid Glycerides and Clove Oil on Growth Performance, Blood Parameters and Tibia Bone Characteristics of Broiler Chickens

Seyyedeh Azam Khatami[1]*, Mir Daryoush Shakouri[2], Nemat Hedayat Evrigh[3]

1, 2 and 3- Ph.D. Student, Associate Professor and Professor., Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, respectively.
*Corresponding Author's Email: mdshakouri@uma.ac.ir

Received: 22-10-2023 Revised: 14-01-2024 Accepted: 05-02-2024 Available Online: 03-12-2024	**How to cite this article:** Khatami, S. A., Shakouri, M. D., & Hedayat Evrigh, N. (2024). Investigating the Effect of Different Levels of Butyric Acid Glycerides and Clove Oil on Growth Performance, Blood Parameters and Tibia Bone Characteristics of Broiler Chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *16*(3),415-432. (in Persian with English abstract). http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.84978.1178

Introduction: Today, livestock and poultry health in the advanced production system is the main challenge affecting human health and the global economy. For years, antibiotics have been widely used as growth promoters to stabilize the microbial population of the digestive tract and improve performance. However, scientific evidence suggests that the massive use of these compounds has led to increased problem of antibiotic resistance and presence of antibiotics residues in feed and compromises human and animal health. Hence, there is a growing need to find effective alternatives to control infectious diseases and limit the spread of resistant bacteria.

Organic acids are an alternative to antibiotics in poultry diets. These are improving the immune system of broilers by acidifying the gastrointestinal tract and improving the intestinal microflora. Coating of organic acids prevents their dissociation and digestion in the stomach so that the biological effect of organic acids reaches the distal parts of the gastrointestinal tract and is effective in intestinal microflora and mucosal morphology. Also, Essential oils are volatile oil compounds that are produced as secondary metabolites by plants. Essential oils extracted from plants have anti-bacterial, anti-viral, anti-fungal, antioxidant activities as well as immune-modulating effects, reducing blood fat and stimulating the digestive system of poultry. Organic acids can complete the effect of essential oils through synergism antibacterial and bactericidal activities. Therefore, the present study was designed to investigate the effect of different levels of butyric acid glycerides and clove oil on growth performance, blood parameters and tibia bone characteristics of broiler chickens.

Material and Methods: A total of 300 male and female broilers (Ross 308) with a completely randomized design with a 2 × 3 factorial arrangement, two levels of butyric acid glycerides (0 and 0.2 %) and three levels of clove oil (0, 500 and 1000 mg/kg) were used. Each of the six dietary treatments was fed to five replicate pens of 10 birds each from 0 to 42 days of age. Body weight gain, feed intake, feed conversion ratio, weights of immune organs, plasma lipids and physical and mineral characteristics of the tibia were recorded. The collected data were analyzed using SAS software (2003) and using the general linear model (GLM) procedure. The equation of the statistical model of the experiment was according to the relation Yijk = μ + Ai + Bj + (AB)ij + eijk, where Yijk represents the numerical value of each observation, μ is the population mean, Ai is the effect of butyric acid glycerides (0 and 0.2%), Bj was the effect of clove oil (0, 500 and 1000 mg/kg), ij (AB) was the interaction effect of butyric acid glycerides and clove oil, and eijk was the experimental error.

http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.84978.1178

Results and Discussion: The results showed that the addition of 0.2% butyric acid glycerides in the diet of broiler chickens reduced feed intake, body weight and daily weight gain compared to the control group (P<0.05). Addition of 1000 mg/kg of clove oil in the diet reduced feed intake, body weight, daily weight gain and european production index compared to the control group (P<0.05). Body weight, feed efecioncy, european efficiency factor and feed conversion ratio of broiler chickens were affected by the interaction effect of butyric acid glycerides and clove oil (P<0.05). The addition of different levels of clove oil with and without butyric acid glycerides in the broiler diet reduced cholesterol and LDL concentration compared to the control group (P<0.05). But the concentration of triglyceride, HDL and VLDL were not affected by the experimental treatments. The interaction effect of clove oil and butyric acid glycerides did not affect the weight of bursa of fabricius, thymus and spleen of broiler chickens. The amount of calcium, phosphorus and ash of tibia bone was significantly affected by butyric acid glycerides. Also, the length of the tibia of broiler chickens was affected by the clove oil and the interaction effect of butyric acid glycerides and clove oil (p<0.05).

Conclusion: In general, no synergistic effect was observed between butyric acid glycerides and clove oil on growth performance of chickens. Although the use of 0.2% butyric acid glycerides and 1000 mg/kg clove oil led to a decrease in the weight gain of chickens by reducing feed intake, but the addition of butyric acid glycerides caused an increase in the concentration of phosphorus, calcium and ash in the tibia bone of broiler chickens.

Keywords: Butyric acid glycerides, Broilers, Clove oil, Tibia bone

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران

Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۱۶، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۴۳۲-۴۱۵

بررسی اثر سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و خصوصیات استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی

سیده اعظم خاتمی[1]، میرداریوش شکوری[2]*، نعمت هدایت ایوریق[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۳۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۰/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۶

چکیده

هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات استفاده از سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی، وزن اندام‌های لنفاوی و خصوصیات استخوان درشت نی در جوجه‌های گوشتی بود. بدین منظور، تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر و ماده سویه راس ۳۰۸ با آرایش فاکتوریل (۳ × ۲) در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو سطح گلیسریدهای اسید بوتیریک (صفر و ۰/۲ درصد) و سه سطح روغن میخک (صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) با شش تیمار، پنج تکرار و ۱۰ قطعه پرنده در هر تکرار استفاده شد. نتایج نشان داد که افزودن ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک در جیره جوجه‌های گوشتی، مصرف خوراک، وزن بدن و افزایش وزن روزانه را نسبت به گروه شاهد کاهش داد (P<۰/۰۵). مکمل کردن جیره جوجه‌های گوشتی با ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک مصرف خوراک، وزن بدن و افزایش وزن روزانه و شاخص تولید اروپایی را نسبت به گروه شاهد کاهش داد (P<۰/۰۵). وزن بدن، بازده خوراک، شاخص تولید اروپایی و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر اثر متقابل گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک قرار گرفت (P<۰/۰۵). افزودن سطوح مختلف روغن میخک با و بدون گلیسریدهای اسید بوتیریک در جیره جوجه‌های گوشتی، غلظت کلسترول و LDL را در مقایسه با گروه شاهد کاهش داد (P<۰/۰۵). امّا غلظت تری‌گلیسرید، HDL و VLDL تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. اثر متقابل روغن میخک و گلیسریدهای اسید بوتیریک وزن بورس فابریسیوس، تیموس و طحال جوجه‌های گوشتی را تحت تأثیر قرار نداد. افزودن ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک، میزان کلسیم، فسفر و خاکستر استخوان درشت نی را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (P< ۰/۰۵). همچنین، طول استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر روغن میخک و اثر متقابل گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک قرار گرفت (P< ۰/۰۵)، به‌طوری‌که استفاده از ۵۰۰ میلی‌گرم روغن میخک به تنهایی و همراه با ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک در جیره، طول استخوان درشت نی را کاهش داد. به‌طور کلی، نتیجه‌گیری می‌شود که علی‌رغم مشاهده اثر هم‌کوشی بین گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک بر صفات عملکرد رشد جوجه‌ها و کاهش مصرف خوراک و در پی آن، کاهش افزایش وزن جوجه‌ها، استفاده از ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک سبب افزایش غلظت فسفر، کلسیم و خاکستر استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی شد. همچنین، استفاده از روغن میخک با و بدون گلیسریدهای اسید بوتیریک سبب کاهش غلظت خونی کلسترول و LDL گردید.

واژه‌های کلیدی: استخوان درشت نی، جوجه گوشتی، روغن میخک، گلیسریدهای اسید بوتیریک

مقدمه

امروزه سلامت دام و طیور در سیستم تولید پیشرفته، چالش اصلی تأثیرگذار بر سلامت انسانی و اقتصاد جهانی است. آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان محرک رشد، سال‌های زیادی به‌طور گسترده برای ایجاد ثبات در جمعیت میکروبی دستگاه گوارش و بهبود عملکرد به‌کار رفته است (Paul *et al.*, 2022). در نتیجه افزایش نگرانی‌ها در مورد ایجاد سویه مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها و همچنین به‌واسطه باقی‌مانده دارویی در بافت‌های حیوانی، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در اتحادیه اروپا (۲۰۰۶) ممنوع اعلام شد. ازاین‌رو، محققان ترکیباتی نظیر اسیدهای آلی، روغن‌های فرار، پروبیوتیک‌ها و ... را به‌عنوان جایگزینی بی‌خطر در تغذیه طیور مورد بررسی قرار داده‌اند.

۱، ۲ و۳ - به‌ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

(*- نویسنده مسئول: Email: mdshakouri@uma.ac.ir)

http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.84978.1178

اسید بوتیریک یک اسیدآلی زنجیر کوتاه چهار کربنه بوده که با تأثیر مستقیم بر تحریک رشد آنتروسیت‌ها سبب افزایش چگالی، بهبود یکپارچگی روده، مهار رشد عوامل بیماری‌زا، افزایش طول پرز و در نتیجه، افزایش سطح جذب مواد مغذی در جوجه‌های گوشتی شده است (Bortoluzzi *et al*., 2017). اسید بوتیریک به دو فرم آزاد و پوشش‌دار وجود دارد (Amiri Andi and Mansouri, 2018). گزارش شده است که اسید بوتیریک به‌فرم آزاد دارای بوی نامطبوع بوده و ۶۰ درصد از آن در چینه‌دان جذب شده و کمتر از یک درصد از این اسید به قسمت‌های پایینی روده کوچک می‌رسد (Wu *et al*., Antongiovanni, 20072018;). با توجه به اینکه قسمت عمده‌ای از کلنی‌های باکتریایی در بخش‌های پایینی دستگاه گوارش (روده) تشکیل می‌شوند، لذا برای از بین بردن آن‌ها، فرم‌های آزاد اسیدآلی مؤثر نبوده و نیاز به پوشش‌دار کردن آن‌ها می‌باشد. پوشش اسیدهای آلی محافظت شده که معمولاً مونو، دی و تری‌گلیسریدها می‌باشد، دارای بوی نامطبوع نبوده و سطوح پایین‌تری از آن نسبت به فرم آزاد برای بهبود عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی نیاز است (Gheisari *et al*., 2007). اسیدهای آلی به‌صورت مونو، دی و تری گلیسرید در اثر ترشح آنزیم‌های صفراوی و پانکراس از هم جدا شده و به‌صورت تجزیه نشده به روده انتقال می‌یابند (Leeson *et al*., 2005). گزارش شده است که گلیسریدهای اسید بوتیریک به‌طور مستقیم وارد روده شده و از نمک‌های اسید بوتیریک آزاد کارآمدتر هستند و با کاهش pHسبب بهبود جمعیت میکروبی جوجه‌های گوشتی می‌شوند (Van Immerseel *et al*., 2009).

اسانس‌ها ترکیبات روغنی فراری هستند که به‌عنوان متابولیت-های ثانویه به‌واسطه گیاهان تولید می‌شوند. اسانس‌های استخراج شده از گیاهان دارای فعالیت‌های ضدباکتریایی، ضدویروسی، ضدقارچی، آنتی‌اکسیدانی و همچنین اثرات تعدیل‌کننده ایمنی، کاهش چربی خون و تحریک دستگاه گوارشی طیور هستند (Gopi *et al*., 2014; Bouhaddouda *et al*., 2016; Micciche *et al*., 2018). اسانس-های گیاهی همچنین سبب بهبود فرآیند هضم و افزایش عملکرد رشد طیور می‌شوند (Torki *et al*., 2021Abu Isha *et al*., 2018;). سازوکار ضدمیکروبی اسانس‌ها تا حد زیادی به خاصیت آبگریزی آن‌ها بستگی دارد که ساختار و نفوذپذیری سلول‌ها را مختل می‌کند (Brenes and Roura, 2010). اسانس‌ها از ایجاد مقاومت ضدمیکروبی جلوگیری نموده و از طریق تنظیم ژن‌های مرتبط با سازوکارهای مقاومت، به مهار باکتری‌های مقاوم کمک می‌کنند (Evangelista *et al*., 2021). اوژنول یک کمپلکس پلی‌فنولی به‌عنوان ماده فعال ضدمیکروبی اولیه موجود در اسانس میخک (*Syzgium aromaticum*) می‌باشد که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدباکتریایی است. علاوه‌براین، اوژنول به‌عنوان محرک اشتها و هضم عمل کرده و همچنین بر جمعیت میکروبی و یکپارچگی سد مخاطی روده و عملکرد سیستم ایمنی در طیور تأثیر مثبت دارد (Zhao *et al*., 2022).

در سال‌های اخیر، ترکیب اسیدهای آلی و اسانس‌های گیاهی به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته و اثرات قابل توجهی را به همراه داشته است (Vinolya *et al*., 2021Iqbal *et al*., 2021 ;). اسیدهای آلی می‌توانند اثر اسانس‌ها را از طریق هم‌افزایی به‌واسطه فعالیت‌های ضدباکتریایی و باکتری‌کشی، تکمیل کنند (Pham *et al*., 2020). ازاین‌رو، با توجه به اثرات مثبت اسانس‌های گیاهی و اسیدهای آلی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی، مطالعه‌ای تحت عنوان اثر سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و خصوصیات استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی طراحی و انجام شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در سالن مرغداری گروه علوم دامی دانشگاه محقق اردبیلی واقع در شهر اردبیل اجرا گردید. بدین منظور، تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه سویه راس ۳۰۸ (نر و ماده) با آرایش فاکتوریل (۳ × ۲) در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو سطح گلیسریدهای اسید بوتیریک (صفر و ۰/۲ درصد) و سه سطح روغن میخک (صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) با شش تیمار، پنج تکرار و ۱۰ قطعه پرنده در هر تکرار انتخاب شدند. اجزا و ترکیب شیمیایی جیره‌ها براساس جدول احتیاجات غذایی سویه راس ۳۰۸ به‌صورت آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی)، رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) تنظیم شدند (Aviagen, 2019) (جدول ۱). گلیسریدهای اسید بوتیریک استفاده شده در این آزمایش از شرکت سنا دام پارس که محصول شرکت سیلو (SILO Additives Ind Co, Italy) است، تهیه گردید. نام تجاری محصول مورد نظر BaBy‒C4 بوده و حاوی مونوگلیسرید اسید بوتیریک (۳۰ درصد)، دی‌گلیسرید اسید بوتیریک (۵۰ درصد) و تری‌گلیسرید اسید بوتیریک (۲۰ درصد) می‌باشد. روغن میخک مورد استفاده نیز از شرکت دارویی و بازرگانی آباتاژ (آیت اسانس) تهیه شد. آنالیز روغن میخک توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی با طیف‌سنج جرمی در دانشکده شیمی دانشگاه محقق اردبیلی انجام گرفت. ترکیبات شیمیایی روغن میخک حاوی ۸۶/۰۲ درصد اوژنول، ۱/۲۶ درصد بتا کاریوفیلین، ۵/۸۸ درصد سیکلوآندکاترین، ۴/۶۲ درصد اوژنول استات و ۲/۲۲ درصد سایر ترکیبات بودند. شرایط محیطی شامل دما، رطوبت و نور براساس توصیه کاتالوگ سویه راس رعایت شد. واکسیناسیون طبق برنامه اداره کل دامپزشکی استان اردبیل انجام گرفت. دسترسی به آب و دان از یک روزگی تا پایان دوره آزمایشی به‌صورت آزاد بود.

جدول ۱- اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی در دوره‌های مختلف

Table 1- The ingredients and chemical composition of experimental diets during different periods

اجزای خوراک (درصد) Diet ingredients (percent)	دوره‌های پرورش Breeding periods		
	آغازین (۱-۱۰ روزگی) Starter (1-10 d)	رشد (۱۱-۲۴ روزگی) Grower (11-24 d)	پایانی (۲۵-۴۲ روزگی) Finisher (25-42 d)
ذرت corn	52.83	56.40	60.28
کنجاله سویا Soybean meal	39.02	35.54	31.67
روغن گیاهی Vegetable oil	3.46	3.88	3.98
پودر صدف Oyster powder	1.27	1.06	1.07
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.87	1.69	1.68
نمک salt	0.41	0.41	0.38
مکمل ویتامینی[۱] Vitamin premix[1]	0.25	0.25	0.25
مکمل مواد معدنی[۲] Mineral premix[2]	0.25	0.25	0.25
دی ال- متیونین D, L-methionine	0.36	0.27	0.25
ال- لیزین هیدروکلرید L- lysine HCl	0.28	0.25	0.19
ترکیب موادمغذی Nutrient composition			
انرژی متابولیسمی (کیلوکالری/کیلوگرم) ME (kcal/kg)	2975	3050	3100
پروتئین خام (درصد) CP (%)	22.12	20.81	19.37
لیزین (٪) Lysine (%)	1.41	1.30	1.16
متیونین (٪) Methionine (%)	0.69	0.59	0.55
متیونین+ سیستین (٪) Methionine + cysteine (%)	1.05	0.93	0.87
آرژنین (٪) Arginine (%)	1.42	0.32	1.22
کلسیم (٪) Calcium (%)	1.04	0.91	0.90
فسفر در دسترس (٪) Available P (%)	0.49	0.45	0.44
سدیم (٪) Sodium (%)	0.18	0.18	0.17

[۱] مقادیر به‌ازای هر کیلوگرم جیره: ویتامین A: (۹۰۰۰ واحد بین‌المللی)، ویتامین D_3 : (۲۰۰۰ واحد بین‌المللی)، ویتامین E: ۳۶ میلی‌گرم، ویتامین K_3: دو میلی‌گرم، ویتامین B_1: ۱/۷۵ میلی‌گرم، ویتامین B_2: ۶/۶ میلی‌گرم، پانتوتنات کلسیم: ۹/۸ میلی‌گرم، نیاسین: ۲۹/۶۵ میلی‌گرم، ویتامین B_6: ۲/۹۴ میلی‌گرم، ویتامین B_9: یک میلی‌گرم، ویتامین B_{12}: ۰/۰۱۵ میلی‌گرم، کلریدکولین:۲۵۰ میلی‌گرم و آنتی‌اکسیدان یک میلی‌گرم

[۲] مقادیر به‌ازای هر کیلوگرم جیره: Mn ۹۹/۲ میلی‌گرم، Zn : ۸۴/۷ میلی‌گرم، Fe: ۵۰ میلی‌گرم، Cu: ۱۰ میلی‌گرم، I: ۰/۹۹ میلی‌گرم و Se: ۰/۲ میلی‌گرم

[1] Supplied per kg of diet: vitamin A (9000 IU), vitamin D_3 (2000 IU), vitamin E (36 mg), vitamin K_3 (2 mg), vitamin B_1 (1.75 mg), vitamin B_2 (6.6 mg), calcium pantothenate (9.8 mg), niacin 29.65 mg; vitamin B_6 (2.94 mg), vitamin B_9 (1 mg), vitamin B_{12} (0.015 mg), choline chloride (250 mg) and antioxidant (1 mg)

[2] Supplied per kg of diet: Mn (manganese, 99.2 mg), Zn (zinc, 84.7 mg), Fe (iron, 50 mg), Cu (copper, 10 mg), (iodate, 0.99 mg), Se (selenium 0.2 mg)

صفات مورد مطالعه

عملکرد رشد

میانگین مصرف خوراک و وزن بدن در ۴۲ روزگی و همچنین میانگین افزایش وزن روزانه، بازده مصرف خوراک و شاخص تولید اروپایی طبق روش مارکو و همکاران (Marcu *et al.*, 2013) (معادله ۱) محاسبه گردید. مصرف خوراک و وزن بدن نیز به‌صورت هفتگی براساس معادله ۲ محاسبه شد.

معادله (۱)

شاخص تولید اروپایی= وزن بدن (کیلوگرم) × درصد زنده‌مانی/مدت آزمایش (روز) × ضریب تبدیل خوراک × ۱۰۰

معادله (۲)

روز مرغ= (تعداد مرغهای زنده در آخر هر دوره × تعداد روزهای آن دوره) + (تعداد روزهایی که مرغهای تلف شده زنده بودند)

فراسنجه‌های خونی

در روز ۴۲، پس از چهار ساعت گرسنگی تحمیلی، دو پرنده از هر قفس انتخاب و از ورید بال خون‌گیری انجام شد. نمونه‌های خون سه ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند تا امکان لخته شدن فراهم شود. سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل شده توسط دستگاه سانتریفیوژ (VISION Model VS-15000 CFN II، ساخت کره جنوبی) با ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به‌مدت ۱۵ دقیقه سرم از پلاسما جداسازی شد. غلظت تری‌گلیسرید، کلسترول و HDL-c با استفاده از کیت‌های تجاری پارس آزمون تحت لیسانس کمپانی دیاکنوستیک و به‌واسطه دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO 2100، ساخت آمریکا) اندازه‌گیری شدند. غلظت LDL-c و VLDL-c طبق معادله‌های زیر براساس روش فریدوالد و همکاران (Friedewald *et al.*, 1972) محاسبه شدند.

معادله (۳) LDL-c = TCHO – HDL-c - TG/5

معادله (۴) VLDL-c= TG /5

که در آن‌ها، TCHO: کلسترول کل و TG: تری‌گلیسرید کل می‌باشد.

خصوصیات فیزیکی و مواد معدنی استخوان درشت نی

جهت تعیین خصوصیات فیزیکی و مواد معدنی استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی، در روز ۴۲ آزمایش و پس از کشتار، دو قطعه جوجه از هر تکرار که وزن آن‌ها نزدیک به میانگین بود، انتخاب و درشت نی چپ به‌دقت جدا شد و درون کیسه‌های پلاستیکی در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بعد از یخ‌گشایی نمونه‌ها، گوشت و کلاهک غضروفی جدا گردید. در مرحله بعد، به‌وسیله تیغه‌ای مخصوص، شکافی در امتداد استخوان درشت نی ایجاد شد و به‌منظور چربی‌زدایی به‌مدت ۴۸ ساعت با دی اتیل اتر (حلال چربی) عصاره‌گیری شد. پس از طی این مدت، استخوان درشت نی از حلال چربی خارج شده و در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد در آون به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. وزن ماده خشک بدون چربی استخوان با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم و طول استخوان با کولیس اندازه‌گیری شد. سپس برای تعیین درصد خاکستر، استخوان‌ها به‌مدت ۲۹ ساعت در داخل بوته چینی در کوره با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، قرار داده شده و درصد خاکستر محاسبه گردید (Zhang and Coon, 1997). مقادیر فسفر نمونه‌ها با استفاده از روش رنگ‌سنجی با معرف مولیبدات- وانادات و در طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر) و میزان کلسیم استخوان نیز به‌روش عیارسنجی (تیتراسیون) اندازه‌گیری شد (Gordon and Roland, 1998).

اندام‌های لنفاوی

در روز ۴۲ دوره پرورشی، دو قطعه پرنده از هر تکرار (یک نر و یک ماده) کشتار شد و اوزان اندام‌های لنفاوی (بورس فابریسیوس، طحال و تیموس) محاسبه و بر مقدار وزن زنده پرنده تقسیم شده و بر حسب درصد وزن زنده گزارش گردید.

تجزیه آماری

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SAS (2003) و با استفاده از رویه مدل خط عمومی (GLM) تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش LSMEANS صورت گرفت و سطح احتمال پنج درصد به‌عنوان سطح معنی‌داری منظور گردید. معادله مدل آماری آزمایش مطابق معادله $Yijk = μ + Ai + Bj + (AB)ij + eijk$ بود که در آن، Y_{ijk}: بیانگر مقدار عددی هر مشاهده، μ: میانگین جمعیت، A_i: اثر گلیسریدهای اسید بوتیریک (صفر و ۰/۲ درصد)، B_j: اثر روغن میخک (صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، $(AB)_{ij}$: اثر متقابل گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک و e_{ijk}: خطای آزمایشی بود.

نتایج و بحث

عملکرد رشد

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، استفاده از ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک در جیره جوجه‌های

گوشتی، مصرف خوراک، وزن بدن و افزایش وزن روزانه را نسبت به گروه بدون گلیسریدهای اسید بوتیریک کاهش داد (P<۰/۰۵)، امّا اثر معنی‌داری بر بازده خوراک و شاخص تولید اروپایی نداشت. افزودن ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک در جیره نیز مصرف خوراک، وزن بدن و افزایش وزن روزانه و شاخص تولید اروپایی را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش داد (P<۰/۰۵)، درحالی که سطح ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. افزایش وزن بدن روزانه، وزن بدن و شاخص تولید اروپایی جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر اثر متقابل گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک قرار گرفت (P<۰/۰۵)، امّا مصرف خوراک تحت تأثیر اثر متقابل قرار نگرفت. اثر سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک روی ضریب تبدیل غذایی معنی‌دار نبود، امّا تحت تأثیر اثر متقابل گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک قرار گرفت (P<۰/۰۵).

صادقیان و همکاران (Sadeghiyan *et al*., 2023) گزارش کردند که افزودن اسیدآلی کپسوله شده و کپسوله نشده وزن بدن جوجه‌های گوشتی را افزایش داد، امّا میزان مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی در اثر استفاده از اسیدهای آلی کپسوله شده و نشده کاهش یافت. در مطالعه دیگری گزارش شده است که گنجاندن اسیدآلی در جیره باعث اختلال در عملکرد و کاهش وزن جوجه‌های گوشتی می‌گردد (Biggs and Parsons, 2008Fascina *et al*., 2017;). همچنین گزارش شده است که مصرف ۰/۳ درصد اسید بوتیریک به‌شکل روغنی در مقایسه با شکل پودری آن و گروه شاهد موجب کاهش خوراک مصرفی جوجه‌های گوشتی شد (Nezhady *et al*., 2011). با مطالعه اثر سه اسیدآلی شامل اسید بوتیریک، اسید فوماریک و اسید لاکتیک در سطوح ۰/۲ و ۰/۳ درصد بهبود وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌ها مشاهده گردید (Adil *et al*., 2010). در مطالعه دیگری، سطوح بالای اسید بوتیریک اثر منفی بر راندمان خوراک داشت، امّا گنجاندن اسید بوتیریک در سطوح پایین اثرات مفیدی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی گذاشت (Aghazadeh and Yazdi, 2012). در سطوح بالاتر (دو گرم بر کیلوگرم بوتیرین) اثر کاهش‌دهنده اشتها در جوجه‌های گوشتی گزارش شده است (Leeson *et al*., 2005). امّا در مطالعه‌ای توسط موکوئت و همکاران (Moquet *et al*., 2018) که از سطوح پایین (یک گرم بر کیلوگرم) از بوتیرات در یک جیره غذایی دارای منبع پروتئینی با هضم ضعیف استفاده کرده بودند نیز کاهش مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی مشاهده شد. در مقابل گزارش شده است که افزودن سطوح ۰/۴ و ۰/۶ درصد اسید بوتیریک در جیره وزن بدن جوجه‌های گوشتی را در بازه زمانی ۱ تا ۲۱ روزگی افزایش و ضریب تبدیل غذایی را کاهش داد (Panda *et al*., 2009). نشان داده شده است که استفاده از ۲۰۰ میلی‌گرم اسید بوتیریک سبب افزایش ضریب تبدیل غذایی گردید (Hu and Guo, 2007). در پستانداران اثر بی اشتهایی ناشی از بوتیرات و سایر اسیدهای چرب زنجیر کوتاه توسط سلول‌های L کولون تعدیل می‌شود که پپتید ۱ شبه گلوکاگون (GLP-1) و پپتید YY (PYY) تولید می‌کنند (Chambers *et al*., 2015). پپتید ۱ شبه گلوکاگون در حضور پروتئین هضم شده و اسیدهای چرب آزاد تولید می‌شود. PYY مستقیماً روی هیپوتالاموس عمل کرده و کوله سیستوکینین (CCK) را تحریک می‌کند که باعث افزایش اثر سیری از طریق عصب واگ شده و اشتها را کاهش می‌دهد (Furness *et al*., 2013). هر چند که چنین سازوکاری در گونه‌های پرندگان مورد مطالعه قرار نگرفته است، امّا لازم به ذکر است که سلول‌های L در امتداد روده کوچک جوجه‌ها توزیع می‌شوند (Monir *et al*., 2014). بنابراین، می‌توان احتمال داد که اسید بوتیریک مورد استفاده در مطالعه حاضر با کاهش اشتها سبب کاهش مصرف خوراک گردیده و در پی آن، وزن جوجه‌ها را کاهش داده است. همچنین از دلایل اختلاف نتایج می‌توان به تفاوت در وضعیت سلامتی، قابلیت هضم خوراک، شرایط نگهداری، مدل‌های عفونت تجربی و غلظت بوتیرات در خوراک اشاره کرد (Ogwuegbu *et al*., 2021).

نوری و همکاران (Nouri *et al*., 2018) با بررسی اثرات نانوامولسیون میخک (اوژنول) بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی نشان دادند که افزودن ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوامولسیون میخک، وزن بدن و افزایش وزن روزانه را نسبت به گروه شاهد کاهش داد. درحالی‌که استفاده از ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوامو-لسیون میخک سبب بهبود ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی گردید. همچنین آزادگان مهر و همکاران (Azadegan Mehr *et al*., 2014) بیان کردند که استفاده از اوژنول در دوره پایانی سبب بهبود عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی گردید. در مطالعه دیگری گزارش شده است که مخلوط اسانس‌های گیاهی (شامل تیمول، اوژنول و پیپرین) و اسیدهای آلی (اسید بنزوئیک) عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی را بهبود می‌بخشد (Weber *et al*., 2012). گزارش شده است که پاسخ عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی به دز مصرفی اوژنول وابسته بوده و با سه سطح ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک در جیره جوجه‌های گوشتی، کاهش مصرف خوراک در سطوح ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم میخک به‌دلیل تأثیر آن روی خوش‌خوراکی جیره مشاهده گردید، زیرا اوژنول به‌عنوان مسکن عمل کرده و حرکات روده را آهسته می‌کند (Daniel *et al*., 2009). غلظت اثربخش میخک زمانی است که در مقادیر کمتر از ۱/۵ گرم در کیلوگرم استفاده شود (Cortés-Rojas *et al*., 2014). برخی از اسانس‌ها ممکن است برای پوشش مخاطی روده تحریک‌کننده بوده و در نتیجه، باعث التهاب روده و کاهش عملکرد جوجه‌های گوشتی

می‌گردند (Su *et al.*, 2021). جوآنی و موراوی (Jouany and Moravi, 2007) گزارش کردند که دوز بیش از حد اسانس‌ها برای حیوانات سمی بوده یا باعث ایجاد واکنش منفی می‌شود. این محققان بیان کردند، زمانی که اوژنول و سینامالدئید با غلظت‌های ۸۵۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به جیره اضافه شد، جذب آلانین از روده موش به‌میزان قابل‌توجهی کاهش یافت. همچنین طغیانی و همکاران (Toghyani *et al.*, 2010) دریافتند که دوز بالاتر اسانس‌های گیاهی در جیره غذایی ممکن است تأثیر نامطلوبی روی برخی از جمعیت‌های میکروبی مفید مانند *لاکتوباسیلوس* داشته باشد و از نشان دادن تأثیر مثبت گیاه بر عملکرد رشد جلوگیری کند. در مطالعه محمدی و همکاران (Mohammadi *et al.*, 2014) نیز اسانس میخک در سطح ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، عملکرد رشد را در مقایسه با سطوح ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن میخک کاهش داد. بنابراین، در مطالعه حاضر، احتمالاً کاهش عملکرد جوجه‌های گوشتی در سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن میخک ناشی از دوز بالاتر آن در جیره جوجه‌های گوشتی می‌باشد.

جدول ۲– اثرات سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک (درصد جیره) و روغن میخک (میلی‌گرم در کیلوگرم) بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی

Table 2– Effect of different levels of butyric acid glycerides (%) and clove oil (mg/kg) on growth performance of broiler chickens

تیمارها Treatments	مصرف خوراک (گرم/ روز/پرنده) Feed intake (g/day/bird)	افزایش وزن روزانه (گرم/ روز/پرنده) Daily weight gain (g/day/bird)	وزن بدن (گرم) Body weight (g)	بازده خوراک (گرم/گرم) Feed efeciency (g/g)	شاخص اروپایی European efficiency factor	ضریب تبدیل غذایی (گرم/گرم) Feed conversion ratio (g/g)
			گلیسریدهای اسید بوتیریک Butyric acid glycerides			
BAG0	82.362^{a}	45.2607^{a}	1946.08^{a}	0.549	245.221	1.82
BAG0.2	78.474^{b}	43.3107^{b}	1864.09^{b}	0.550	235.283	1.81
SEM	0.7340	0.4561	19.1730	0.0049	5.7240	0.015
			روغن میخک Clove oil			
CO0	81.120^{a}	44.7180^{a}	1923.25^{a}	0.551	240.544^{ab}	1.81
CO500	82.504^{a}	46.1430^{a}	1983.25^{a}	0.559	253.685^{a}	1.79
CO1000	77.630^{b}	41.9960^{b}	1808.76^{b}	0.540	226.527^{b}	1.85
SEM	0.8989	0.5586	23.4826	0.0060	7.0105	0.018
			روغن میخک × گلیسریدهای اسید بوتیریک Butyric acid glycerides × clove oil			
BAG0 × CO0	82.468	43.404	1868.18^{bc}	0.526^{b}	225.14^{b}	1.90^{a}
BAG0 × CO500	85.086	48.820	2095.73^{a}	0.574^{a}	274.97^{a}	1.74^{b}
BAG0 × CO1000	79.532	43.558	1874.33^{bc}	0.548^{ab}	235.55^{ab}	1.82^{ab}
BAG0.2 × CO0	79.772	46.032	1978.31^{ab}	0.576^{a}	255.95^{ab}	1.73^{b}
BAG0.2 × CO500	79.922	43.466	1870.78^{bc}	0.544^{ab}	232.40^{ab}	1.83^{ab}
BAG0.2 × CO1000	75.728	40.434	1743.18^{c}	0.532^{b}	217.50^{b}	1.87^{a}
SEM	1.2713	0.7900	33.2095	0.0085	9.9143	0.026
			سطح معنی‌داری P-value			
BAG	0.0010	0.0059	0.0059	0.8507	0.2315	0.6644
CO	0.0024	<.0001	<.0001	0.1058	0.0382	0.0841
BAG × CO	0.6290	0.0001	0.0001	0.0002	0.0038	0.0001

حروف متفاوت در ستون‌ها نشان از معنی‌داری در سطح پنج درصد می‌باشد.

Different letters in the columns indicate significance at the 5% level

میانگین خطای استاندارد

SEM: Standard Error of Mean

گلیسریدهای اسید بوتیریک، روغن میخک

BAG = Butyric acid glycerides, CO= Clove oil

فراسنجه‌های خونی

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی در جدول ۳ نشان داده است. نتایج نشان داد که افزودن گلیسریدهای اسید بوتیریک و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک، غلظت کلسترول و LDL را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه بدون افزودنی کاهش داد. غلظت HDL در اثر تغذیه جوجه‌های گوشتی با گلیسریدهای اسید بوتیریک و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک افزایش یافت، درحالی‌که غلظت تری‌گلیسرید و VLDL تحت تأثیر گلیسریدهای اسید بوتیریک قرار نگرفت. نتایج نشان داد که اثر متقابل گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک، غلظت کلسترول و LDL را به‌طور معنی‌داری کاهش دادند، به‌طوری‌که کمترین میزان LDL و کلسترول مربوط به جوجه‌های تغذیه شده با ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک مشاهده شد (P<۰/۰۵).

صادقیان و همکاران (Sadeghiyan *et al*., 2023) نشان دادند که غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL و HDL تحت تأثیر اسیدهای آلی کپسوله شده و بدون کپسول قرار نگرفت. کمال و راگا (Kamal and Ragaa, 2014) و دیپا و همکاران (Deepa *et al*., 2017) گزارش کردند که تغذیه جوجه‌های گوشتی با اشکال مختلف اسید بوتیریک، غلظت کلسترول و LDL را کاهش داد، امّا تأثیر معنی‌داری بر غلظت HDL نداشت. در مطالعه دیگری، مکمل کردن جیره جوجه‌های گوشتی با ۰/۲ و ۰/۲۵ درصد اسید بوتیریک، غلظت تری‌گلیسرید خون را کاهش داد. در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با گلیسریدهای اسید بوتیریک، رسوب چربی کاهش می‌یابد که در ارتباط با تغییرات ایجاد شده در ساختار لیپید سرم و همچنین سطوح برخی آنزیم‌های وابسته به متابولیسم لیپید است (Yin *et al*., 2016). مشخص شده است که اسیدهای آلی، سلامتی دستگاه گوارش را با تحریک رشد باکتری‌های سودمند بهبود می‌بخشند، درحالی‌که باکتری‌های بیماری‌زا را مهار می‌کنند. اسیدهای صفراوی دکونژوگه کمتر محلول بوده است، لذا در روده کمتر جذب می‌شوند و به احتمال زیاد کلسترول را دفع کرده و سبب کاهش تجمع کلسترول در بدن می‌شوند (Taherpour *et al*., 2010). ازاین‌رو، کاهش غلظت کلسترول سرم را می‌توان به تخریب و تبدیل کلسترول توسط لاکتوباسیل‌ها و سایر جمعیت‌های میکروبی مجرای روده نسبت داد. جمعیت میکروبی قسمت انتهایی روده توانایی سنتز هیدرولازهای نمک صفراوی را دارند که سبب جدا کردن نمک‌های صفراوی می‌گردند (آن‌ها را کمتر جذب می‌کند) و از آنجایی که کلسترول پیش‌ساز اسیدهای صفراوی است، کلسترول بیشتری از گردش خون برای سنتز نمک‌های صفراوی حرکت می‌کند (Caspary, 1992).

نوری و همکاران (Nouri *et al*., 2018) گزارش کردند که استفاده از ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوامولسیون میخک تأثیر معنی‌داری بر غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL و HDL نداشت. استفاده از سطوح ۰/۵، ۱، ۱/۵ گرم در کیلوگرم روغن میخک در جیره، غلظت کلسترول جوجه‌های گوشتی افزایش داد (Mahrous *et al*., 2014). امّا مطابق نتایج این پژوهش، افزودن ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک در جیره جوجه‌های گوشتی سبب کاهش کلسترول و افزایش کلسترول HDL شد (Moustafa *et al*., 2020). همچنین در مطالعه دیگری، کاهش قابل توجهی در غلظت کلسترول جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با روغن میخک گزارش شده است (Azadegan Mehr *et al*., 2014). گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد اسانس‌های گیاهی، غلظت LDL سرم را کاهش می‌دهند (Yildirim *et al*., 2018). هارب و همکاران (Harb *et al*., 2019) پیشنهاد کردند که نانوامولسیون اوژنول LDL را با مهار آنزیم‌های خاص مانند پراکسیداز و دهیدروژناز کاهش می‌دهد. سازوکار احتمالی کاهش ساخت کلسترول توسط محصولات گیاهی (اسانس‌های آویشن، میخک و دارچین) ممکن است به‌دلیل اثرات بازدارنده ترکیبات فعال آن بر آنزیم ردوکتاز ۳- هیدروکسی ۳- متیل گلوتاریل CoA یا افزایش تجزیه باشد، زیرا آنزیم اصلی برای تولید کلسترول است (Chowdhury *et al*., 2018). همچنین ممکن است که تغییر در سطح متابولیسم لیپید ناشی از اثر آنتی اکسیدان‌های اسانس و آنتی‌پراکسیدها بر فعالیت کبد باشد که بر بیوسنتز کلسترول تأثیر می‌گذارد (Elbaz *et al*., 2022). در ارتباط با اثرات استفاده همزمان اسیدآلی و روغن فرار روی فراسنجه‌های خونی سرم جوجه‌های گوشتی، اقبال و همکاران (Iqbal *et al*., 2021) با استفاده همزمان ۰/۱ گرم بر کیلوگرم اسیدآلی و یک گرم بر کیلوگرم روغن فرار مشاهده کردند که کلسترول کل و HDL سرم جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر قرار نگرفت. بااین‌حال، افزایش سطح گلوکز خون و کاهش غلظت LDL به‌طور قابل توجهی مشاهده شد. کروزو و همکاران (Krauze *et al*., 2021) نیز از یک افزودنی تجاری فیتوبیوتیک (حاوی ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر روغن دارچین و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سیتریک) در سطوح ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌لیتر در لیتر آب آشامیدنی استفاده کرده و مشاهده نمودند که کلسترول کل و تری‌گلیسرید سرم جوجه‌های گوشتی کاهش نشان داد. این محققان بیان کردند که اجزای روغن باعث استفاده شدید از گلیسرول جهت سنتز مجدد گلوکز در فرآیند گلوکونئوژنز شده و بنابراین، سنتز چربی را محدود می‌کند.

جدول ۳– اثر سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک (درصد جیره) و روغن میخک (میلی‌گرم در کیلوگرم) بر برخی فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی در روز ۴۲ دوره پرورشی

Table 3– Effect of different levels of butyric acid glycerides (%) and clove oil (mg/kg) on some blood parameter of broiler chickens on day 42

تیمارها Treatments	کلسترول کل (میلی‌گرم/دسی-لیتر) TCHO (mg/dl)	تری‌گلیسرید (میلی‌گرم/دسی-لیتر) TG (mg/dl)	کلسترول لیپوپروتئین با دانسیته بالا (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) HDL-c (mg/dl)	کلسترول لیپوپروتئین با دانسیته خیلی پایین (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) VLDL-c (mg/dl)	کلسترول لیپوپروتئین با دانسیته پایین (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) LDL-c (mg/dl)
			گلیسریدهای اسید بوتیریک Butyric acid glycerides		
BAG0	111.44[a]	62.186	59.922[b]	12.437	39.083[a]
BAG0.2	108.114[b]	60.765	64.922[a]	12.153	31.036[b]
SEM	1.1647	1.5104	1.0013	0.3021	1.1351
			روغن میخک Clove oil		
CO0	114.713[a]	63.721	60.126[b]	12.744	41.840[a]
CO500	106.902[b]	60.195	62.228[ab]	12.038	32.632[b]
CO1000	107.722[b]	60.511	64.911[a]	12.103	30.707[b]
SEM	1.4265	1.8499	1.2264	0.3700	1.3903
			روغن میخک× گلیسریدهای اسید بوتیریک Butyric acid glycerides× clove oil		
BAG0 × CO0	119.422[a]	64.353	57.674	11.871	48.875[a]
BAG0 × CO500	106.046[b]	60.511	58.995	12.101	34.947[b]
BAG0 × CO1000	108.863[b]	61.694	63.096	12.340	33.427[b]
BAG0.2 × CO0	110.003[b]	63.088	62.578	12.617	34.805[b]
BAG0.2 × CO500	107.757[b]	59.880	65.461	11.975	30.318[b]
BAG0.2 × CO1000	105.581[b]	59.323	66.726	11.867	27.986[b]
SEM	2.0174	2.6161	1.7344	0.5233	1.9662
			سطح معنی‌داری P-value		
BAG	0.0482	0.747	0.0009	0.5086	0.0001
CO	0.0004	0.208	0.0280	0.3366	0.0001
BAG × CO	0.0261	0.770	0.7166	0.9454	0.0359

حروف متفاوت در ستون‌ها نشان از معنی‌داری در سطح پنج درصد می‌باشد.

Different letters in the columns indicate significance at the 5% level

میانگین خطای استاندارد

SEM: Standard Error of Mean

گلیسریدهای اسید بوتیریک، روغن میخک، کلسترول کل، تری‌گلیسرید

BAG= Butyric acid glycerides, CO=Clove oil, TCHO= Total Cholesterol, TG= Triglyceride

وزن اندام‌های لنفاوی

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر اوزان نسبی اندام‌های لنفاوی دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی در جدول ۴ نشان داده شده است. افزودن ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک، وزن بورس فابرسیوس را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (P<۰/۰۵)؛ امّا تأثیری بر وزن طحال و تیموس نداشت. مکمل کردن جیره جوجه‌های گوشتی با ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک، وزن تیموس را نسبت به گروه شاهد و جوجه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک به‌طور معنی‌داری افزایش داد. استفاده از روغن میخک تأثیری بر وزن بورس فابرسیوس و طحال ایجاد نکرد. اثرات متقابل روغن میخک و گلیسریدهای اسید بوتیریک، وزن اندام‌های لنفاوی مورد بررسی را تحت تأثیر قرار نداد.

طحال، بورس و تیموس به‌عنوان شاخصی از پاسخ ایمنی در مطالعات علمی در نظر گرفته می‌شوند. وزن بیشتر این اندام‌ها با عملکردهای ایمنی قوی مرتبط است. بورس فابرسیوس و تیموس مسئول تولید سلول‌هایی جهت محافظت پرندگان در برابر ریزجانداران

مهاجم می‌باشند و همچنین طحال، محل اصلی شکل‌گیری پاسخ ایمونولوژیکی نسبت به پادتن‌های موجود در جریان خون به شمار می‌رود. این عضو جایگاه اصلی بیگانه‌خواری میکروب‌های پوشیده از پادتن می‌باشد (Casteleyn *et al.*, 2010). امران و همکاران (Imran *et al.*, 2018) گزارش کردند که استفاده از سطوح مختلف اسید بوتیریک میکرو کپسوله شده (۰/۰۲۵، ۰/۰۳۵ و ۰/۰۴۵ درصد) اثری بر وزن اندام‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی نداشت. امّا در مقابل گزارش شده است که گنجاندن سدیم بوتیرات در جیره جوجه‌های گوشتی وزن نسبی تیموس را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (Lan *et al.*, 2020). در مطالعه دیگری، محمدباقری و نجفی (Mohammadbagheri and Najafi, 2014) نشان دادند که استفاده از اسیدآلی در جیره جوجه‌های گوشتی، وزن بورس فابرسیوس را افزایش داد، امّا تأثیر معنی‌داری بر وزن تیموس و طحال نداشت. سیکندر و همکاران (Sikandar *et al.*, 2017) گزارش کردند که استفاده از سطوح ۰/۵ و ۱ گرم در کیلوگرم اسید بوتیریک، وزن بورس فابرسیوس جوجه‌های گوشتی را در سن ۲۱ روزگی افزایش داد. پارک و همکاران (Park *et al.*, 2015) بیان کردند که اسیدهای چرب زنجیر کوتاه از جمله بوتیرات‌ها معمولاً در روده سنتز می‌شوند و از رشد سلول‌های T تنظیم‌کننده اینترلوکین-۱۰ حمایت می‌کنند که این سلول‌ها چارچوب سیستم ایمنی را حفظ می‌کنند. ژو و همکاران (Zhou *et al.*, 2014) نشان دادند که بوتیرات تولید اکسید نیتریک را مهار می‌کند و بیان سیتوکین‌ها از جمله اینترلوکین-۶، اینترلوکین-۱۰ و اینترفرون گاما را کاهش داده و با کنترل التهاب سبب حفظ ایمنی می‌شود. در مطالعه حاضر، وزن بورس فابرسیوس در نتیجه مصرف گلیسریدهای اسید بوتیریک افزایش یافت که احتمالاً ناشی از بهبود وضعیت ایمنی می‌باشد.

استفاده از سطوح مختلف روغن میخک در جیره جوجه‌های گوشتی تأثیری بر وزن نسبی بورس فابریسیوس و طحال در ۴۲ روزگی نداشت (Azadegan Mehr *et al.*, 2014). سلیمیان و همکاران (Salimian *et al.*, 2016) با استفاده از دو گرم در کیلوگرم پودر میخک در جیره، تأثیر معنی‌داری در وزن طحال و بورس فابریسیوس جوجه‌های گوشتی مشاهده نکردند. نوری و همکاران (Nouri *et al.*, 2018) گزارش کردند که وزن نسبی بورس فابریسیوس در اثر استفاده از ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو امولسیون روغن میخک در جیره جوجه‌های گوشتی افزایش یافت. همچنین در مطالعه دیگری، گاندومانی و همکاران (Gandomani *et al.*, 2014) نشان دادند که افزودن پودر میخک به جیره‌های غذایی مرغ‌ها باعث افزایش وزن نسبی طحال می‌شود. این محققان بیان کردند که اختلاف در نتایج ممکن است به‌علت تفاوت در منابع میخک، سطوح میخک، ترکیب جیره غذایی یا شرایط محیطی باشد. در مورد اثرات استفاده همزمان از اسیدآلی و روغن فرار روی وزن اندام‌های لنفاوی جوجه‌های گوشتی، آدول و همکاران (Adewole *et al.*, 2021) گزارش کردند که استفاده از اسیدهای آلی محافظت شده در ترکیب با اسانس در سطح ۳۰۰ گرم در کیلوگرم خوراک روی وزن نسبی اندام‌های لنفاوی (بورس فابریسیوس و طحال) اثری نداشت.

خصوصیات فیزیکی و مواد معدنی استخوان درشت نی

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر ویژگی‌های فیزیکی و مواد معدنی استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که افزودن ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک در جیره جوجه‌های گوشتی، میزان خاکستر، فسفر و کلسیم را به‌طور معنی‌داری افزایش داد ($P<0.05$)، امّا اختلاف معنی‌داری بر میزان قطر، طول و وزن استخوان درشت نی مشاهده نشد. افزودن ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک، طول استخوان درشت نی را نسبت به گروه شاهد افزایش داد ($P<0.05$). قطر، وزن، فسفر، کلسیم و خاکستر استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر سطوح مختلف روغن میخک قرار نگرفت. اثر متقابل معنی‌داری بین دو عامل گلیسریدهای اسید بوتیریک و اوژنول بر صفات مورد مطالعه مشاهده نشد. محمدی پور و همکاران (Mohammadpour *et al.*, 2014) گزارش کردند که تراکم و درصد خاکستر استخوان درشت نی در جوجه‌های گوشتی ۲۱ روزه با افزودن اسیدآلی افزایش یافت، امّا وزن، حجم و طول استخوان درشت نی تحت تأثیر قرار نگرفتند. در مطالعه دیگری گزارش شده است که اسیدهای آلی هیچ اثر قابل توجهی بر شاخص‌های هندسی استخوان ران و درشت نی مرغ‌های تخم‌گذار نداشتند (Świątkiewicz *et al.*, 2010). هرناندز و همکاران (Hernandez *et al.*, 2006) نشان دادند که افزودن اسید فرمیک در سطوح ۰/۵ یا ۱ درصد در جیره جوجه‌های گوشتی، تأثیری بر کلسیم و فسفر استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی ندارد. مشاهده شده است که مکمل‌سازی جیره جوجه‌های گوشتی با مخلوط اسیدهای آلی در سطح ۰/۲ درصد باعث افزایش محتوای خاکستر استخوان درشت نی می‌گردد (Emami *et al.*, 2013). خاکستر استخوان به‌عنوان یکی از حساس‌ترین معیارها برای تشخیص پاسخ به مواد معدنی جیره در طیور مطرح است (Onyango *et al.*, 2003). افزایش خاکستر استخوان اشاره به بهبود معدنی شدن استخوان دارد. تأثیر اسیدهای آلی در بهبود قابلیت دسترسی کلسیم و فسفر را می‌توان به کاهش pH روده مرتبط دانست که احتمالاً از طریق تحریک افزایش طول پرزهای روده و ایجاد کیلات کلسیم و در نتیجه، کاهش تولید کمپلکس فیتات - کلسیم انجام می‌پذیرد.

جدول ٤– اثر سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک (درصد جیره) و روغن میخک (میلی‌گرم در کیلوگرم) بر وزن نسبی اندام‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی (بر حسب درصد وزن بدن) در روز ۴۲ پرورشی

Table 4– Effect of different levels of butyric acid glycerides (%) and clove oil (mg/kg) on weights of immune organs (% BW) of broiler chickens on day 42

تیمارها Treatments	بورس فابریسیوس (درصد) Bursa of fabricius	تیموس (درصد) Thymus	طحال (درصد) spleen
گلیسریدهای اسید بوتیریک Butyric acid glycerides			
BAG0	0.137^{b}	0.551	1.146
BAG0.2	0.157^{a}	0.601	1.263
SEM	0.0058	0.0238	0.0460
روغن میخک Clove oil			
CO0	0.143	0.456^{c}	1.193
CO500	0.153	0.703^{a}	1.244
CO1000	0.146	0.568^{b}	1.175
SEM	0.0072	0.0292	0.0563
روغن میخک × گلیسریدهای اسید بوتیریک Butyric acid glycerides× clove oil			
BAG0 × CO0	0.123	0.403	1.055
BAG0 × CO500	0.149	0.733	1.232
BAG0 × CO1000	0.139	0.516	1.150
BAG0.2 × CO0	0.162	0.510	1.331
BAG0.2 × CO500	0.156	0.674	1.257
BAG0.2 × CO1000	0.153	0.620	1.200
SEM	0.102	0.0413	0.0796
سطح معنی‌داری P-value			
BAG	0.0171	0.1105	0.0833
COO	0.5527	0.0001	0.6346
BAG × CO	0.2240	0.1013	0.2181

حروف متفاوت در ستون‌ها نشان از معنی‌داری در سطح پنج درصد می‌باشد.

Different letters in the columns indicate significance at the 5% level

میانگین خطای استاندارد

SEM: Standard Error of Mean

گلیسریدهای اسید بوتیریک، روغن میخک

BAG= Butyric acid glycerides, CO= Clove oil

گزارش شده است که استفاده از گلیسریدهای اسید بوتیریک (۰ و ۰/۳ درصد جیره) در جیره جوجه‌های گوشتی باعث افزایش خاکستر، کلسیم و فسفر در استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی شد، امّا این افزایش معنی‌دار نبود (Irani *et al.*, 2011). اختلاف در نتایج مطالعات را می‌توان تا حدی با شکل و سطح اسیدی‌کننده و شرایط غیر بهینه مواد مغذی مانند سطح فسفر جیره غذایی توضیح داد (Esmaeilipour *et al.*, 2011).

اسانس‌ها دارای خواص چربی دوستی هستند، به‌راحتی از غشای سلولی عبور کرده و با تحریک یا مهار مسیرهای متابولیکی خاص بر عملکرد سلول‌های استخوانی تأثیر می‌گذارند (Sabbieti *et al.*, 2011). علاوه‌براین، اسانس‌ها با تکثیر استئوبلاست‌ها و تراکم مواد معدنی، استحکام استخوان را افزایش می‌دهند (Olgun, 2016).

گزارش شده است که جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس پرتقال در مقایسه با پرندگانی که اسانس دریافت نکرده بودند، وزن و تراکم خشک بیشتری در استخوان درشت نی داشتند (Souza *et al.*, 2021). سویم و کوفادار (Sevim and Cufadar, 2021) گزارش کردند که غلظت کلسیم، فسفر و منیزیم استخوان درشت نی در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با اسانس آویشن به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود. چنگیز و همکاران (Cengiz *et al.*, 2016) اثرات اسانس آویشن، رزماری و رازیانه را بر خصوصیات استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی بررسی کرده و گزارش کردند که مصرف مکمل اسانس رازیانه و مخلوط آویشن + رزماری + رازیانه در سطوح ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش معنی‌دار محتوای کلسیم استخوان نسبت به گروه شاهد شد.

این محققان گزارش کردند که اسانس‌ها با تحریک فعالیت استروژن که رابطه مستقیمی با کلسیم دارد بـه محافظـت از سـاختار اسـکلتی کمک می‌کنند (Cengiz *et al.*, 2016). اثرات اسانس‌ها و ترکیبـات آن‌ها در جیره طیور بر غلظت‌های کلسیم، منیـزیم و فسـفر اسـتخوان بسته به سطوح اسانس مورد استفاده یا شرایط محیطی متفـاوت مـی‌باشد (Sevim and Cufadar, 2021).

جدول ۵- اثر سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک (درصد جیره) و روغن میخک (میلی‌گرم در کیلوگرم) بر خصوصیات فیزیکی و مواد معدنی استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی در روز ۴۲ پرورشی

Table 5- Effect of different levels of butyric acid glycerides (%) and clove oil (mg/kg) on physical and chemical characteristics of the tibia of broiler chickens on day 42

تیمارها Treatments	وزن (گرم) Weight (g)	طول (میلی‌متر) Length (mm)	قطر (میلی‌متر) Diameter (mm)	خاکستر (درصد) Ash (%)	فسفر (درصد) Phosphorus (%)	کلسیم (درصد) Calcium (%)
BAG0	5.325	128.546	7.496	42.660[b]	5.729[b]	20.192[b]
BAG0.2	5.954	129.564	7.488	45.331[a]	7.072[a]	21.691[a]
SEM	0.2259	0.7405	0.2399	0.6476	0.1920	0.3585
			روغن میخک Clove oil			
CO0	6.106	130.255[a]	7.862	43.518	6.355	20.291
CO500	5.289	125.148[b]	7.364	43.595	6.309	21.047
CO1000	5.525	131.762[a]	7.251	44.875	6.538	21.487
SEM	0.2767	0.9069	0.2938	0.7932	0.2352	0.4391
			روغن میخک × گلیسریدهای اسید بوتیریک Butyric acid glycerides × clove oil			
BAG0 × CO0	5.544	127.940	7.862	41.378	5.626	19.290
BAG0 × CO500	4.848	124.948	7.292	42.654	5.594	20.662
BAG0 × CO1000	5.584	132.750	7.336	43.950	5.968	20.624
BAG0.2 × CO0	6.668	132.570	7.862	45.658	7.084	21.292
BAG0.2 × CO500	5.730	125.348	7.436	44.536	7.024	21.432
BAG0.2 × CO1000	5.466	130.774	7.166	45.800	7.108	22.350
SEM	0.3914	1.2826	0.4156	1.121	0.3327	0.6210
			سطح معنی‌داری P-value			
BAG	0.0606	0.3407	0.9798	0.0076	0.0001	0.0069
CO	0.1212	0.0001	0.3119	0.4109	0.7693	0.1718
BAG × CO	0.2625	0.0500	0.9312	0.4733	0.8700	0.5886

حروف متفاوت در ستون‌ها نشان از معنی‌داری در سطح پنج درصد می‌باشد.

Different letters in the columns indicate significance at the 5% level

میانگین خطای استاندارد

SEM: Standard Error of Mean

گلیسریدهای اسید بوتیریک، روغن میخک

BAG= Butyric acid glycerides, CO= Clove oil

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، بـین گـروه‌هـای دریافت‌کننـده گلیسـریدهای اسـید بوتیریک و روغن میخک اثر هم‌کوشـی بـر عملکـرد رشـد جوجـه‌هـا مشاهده نشـد. هـر چنـد اسـتفاده از ۰/۲ درصـد گلیسـریدهای اسـید بوتیریک و ۱۰۰۰ میلی‌گـرم در کیلـوگرم روغـن میخـک بـا کـاهش مصرف خوراک به کاهش افزایش وزن جوجه‌ها منجر شد، امّا افزودن گلیسریدهای اسید بوتیریک در جیـره سـبب افـزایش غلظـت فسـفر، کلسیم و خاکستر استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی گردید.

References

1. Abu Isha, A. A., Abd El-Hamid, A. E., Ziena, H. M., & Ahmed, H. A. (2018). Effect of spearmint (*Mentha spicata*) on productive and physiological parameters of broiler chicks. *Egyptian Poultry Science Journal, 38*(3), 815-829. http://dx.doi.org/10.21608/EPSJ.2018.17106.
2. Adewole, D. I., Oladokun, S., & Santin, E. (2021). Effect of organic acids–essential oils blend and oat fiber combination on broiler chicken growth performance, blood parameters, and intestinal health. *Animal*

Nutrition, *7*(4), 1039-1051. http://dx.doi.org/10.1016/j.aninu.2021.02.001
3. Adil, S., Banday, T., Bhat, G. A., Mir, M. S., & Rehman, M. (2010). Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. *Veterinary Medicine International*, 479485. http://dx.doi.org/10.4061/2010/479485
4. Aghazadeh, A. M., & TahaYazdi, M. (2012). Effect of butyric acid supplementation and whole wheat inclusion on the performance and carcass traits of broilers. South African *Journal of Animal Science*, *42*(3), 241-248. http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v42i3.5
5. Amiri Andi, M., & Mansouri, H. (2018). Effect of different levels of dietary protected butyric acid on growth performance, blood metabolites and minerals of tibiainbroiler chicken. *Research on Animal Production*, *8*(18), 10-19. (In Persian). http://dx.doi.org/10.29252/rap.8.18.10
6. Antongiovanni, M., Buccioni, A., Petacchi, F., Leeson, S., Minieri, S., Martini, A., & Cecchi, R. (2007). Butyric acid glycerides in the diet of broiler chickens: Effects on gut histology and carcass composition. *Italian Journal of Animal Science*, *6*(1), 19-25. http://dx.doi.org/10.4081/ijas.2007.19
7. Aviagen. (2019). Ross 308 Broiler Nutrition Specifications. Aviagen Ltd, Newbridge, UK.
8. Azadegan Mehr, M., Hassanabadi, A., Nassiri Moghaddam, H., & Kermanshah, H. (2014). Supplementation of clove essential oils and probiotic on blood components, lymphoid organs and immune response in broiler chickens. *Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences*, *4*(4), 218-223.
9. Biggs, P., & Parsons, C. M. (2008). The effects of several organic acids on growth performance, nutrient digestibilities, and cecal microbial populations in young chicks. *Poultry Science*, *87*(12), 2581-2589. http://dx.doi.org/org/10.3382/ps.2008-00080
10. Bortoluzzi, C., Pedroso, A. A., Mallo, J. J., Puyalto, M., Kim, W. K., & Applegate, T. J. (2017). Sodium butyrate improved performance while modulating the cecal microbiota and regulating the expression of intestinal immune-related genes of broiler chickens. *Poultry Science*, *96*(11), 3981-3993. http://dx.doi.org/10.3382/ps/pex218
11. Bouhaddouda, N., Aouadi, S., & Labiod, R. (2016). Evaluation of chemical composition and biological activities of essential oil and methanolic extract of Origanum vulgare L. ssp. glandulosum (DESF.) Ietswaart from Algeria. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, *8*(1), 104-112. http://dx.doi.org/10.26502/jppr.0003
12. Brenes, A., & Roura, E. (2010). Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*, *158*(1-2), 1-14. http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.03.007
13. Caspary, W. F. (1992). Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. The *American journal of clinical nutrition*, *55*(1), 299-308. http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/55.1.299s
14. Casteleyn, C., Doom, M., Lambrechts, E., Van Den Broeck, W., Simoens, P., & Cornillie, P. (2010). Locations of gut-associated lymphoid tissue in the 3-month-old chicken: A review. *Avian Pathology*, *39*(3), 143-150. http://dx.doi.org/10.1080/03079451003786105
15. Cengiz, S. S., Yesilbag, D., Eren, M., Cetin, I., Meral, Y., & Biricik, H. A. K. A. N. (2016). Effects of volatile oil additives on growth, carcass performances, and calcium and phosphorus concentrations in serum and bone of broilers. Revue de Medecine Veterinaire, *167*(7), 230-239.
16. Chambers, E. S., Morrison, D. J., & Frost, G. (2015). Control of appetite and energy intake by SCFA: what are the potential underlying mechanisms?.R *Proceedings of the Nutrition Society*, *74*(3), 328-336. http://dx.doi.org/10.1017/S0029665114001657
17. Chowdhury, S., Mandal, G. P., Patra, A. K., Kumar, P., Samanta, I., Pradhan, S., & Samanta, A. K. (2018). Different essential oils in diets of broiler chickens: 2. Gut microbes and morphology, immune response, and some blood profile and antioxidant enzymes. *Animal Feed Science and Technology*, *1* (236), 39-47. http://dx.doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2017.12.003
18. Cortés-Rojas, D. F., de Souza, C. R. F., & Oliveira, W. P. (2014). Clove (*Syzygium aromaticum*): A precious spice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *4*(2), 90-96. http://dx.doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60215-X
19. Daniel, A. N., Sartoretto, S. M., Schmidt, G., Caparroz-Assef, S. M., Bersani-Amado, C. A., & Cuman, R. K. N. (2009). Anti-inflammatory and antinociceptive activities A of eugenol essential oil in experimental animal models. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, *19*(1), 212-217. http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2009000200006
20. Deepa, K., Purushothaman, M. R., Vasanthakumar, P., & Sivakumar, K. (2017). Serum biochemical parameters and meat quality influenced due to supplementation of sodium butyrate in broiler chicken. *International Journal of Livestock Research*, *7*(8), 108-116. http://dx.doi.org/10.5455/IJLR.20170610051212
21. Elbaz, A. M., Ashmawy, E. S., Salama, A. A., Abdel-Moneim, A. M. E., Badri, F. B., & Thabet, H. A. (2022). Effects of garlic and lemon essential oils on performance, digestibility, plasma metabolite, and intestinal health in broilers under environmental heat stress. *BMC Veterinary Research*, *18*(1), 1-12. http://dx.doi.org/10.1186/s12917-022-03530-y.
22. Emami, N. K., Naeini, S. Z., & Ruiz-Feria, C. A. (2013). Growth performance, digestibility, immune response and

intestinal morphology of male broilers fed phosphorus deficient diets supplemented with microbial phytase and organic acids. *Livestock Science*, *157*(2-3), 506-513. http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2013.08.014

23. Esmaeilipour, O., Shivazad, M., Moravej, H., Aminzadeh, S., Rezaian, M., & Van Krimpen, M. M. (2011). Effects of xylanase and citric acid on the performance, nutrient retention, and characteristics of gastrointestinal tract of broilers fed low-phosphorus wheat-based diets. *Poultry Science*, *90*(9), 1975-1982. http://dx.doi.org/10.3382/ps.2010-01264
24. Evangelista, A. G., Corrêa, J. A. F., Pinto, A. C. S. M., & Luciano, F. B. (2022). The impact of essential oils on antibiotic use in animal production regarding antimicrobial resistance–a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *62*(19), 5267-5283. http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2021.1883548
25. Fascina, V. B., Pasquali, G. A. M., Carvalho, F. B., Muro, E. M., Vercese, F., Aoyagi, M. M., & Sartori, J. R. (2017). Effects of phytogenic additives and organic acids, alone or in combination, on the performance, intestinal quality and immune responses of broiler chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, *19*(3), 497-508. http://dx.doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0422
26. Friedewald, W. T., Levy, R. I., & Fredrickson, D. S. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, *18*(6), 499-502.
27. Furness, J. B., Rivera, L. R., Cho, H. J., Bravo, D. M., & Callaghan, B. (2013). The gut as a sensory organ. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, *10*(12), 729-740. http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2013.18 .
28. Gandomani, V. T., Mahdavi, A. H., Rahmani, H. R., Riasi, A., & Jahanian, E. (2014). Effects of different levels of clove bud (*Syzygium aromaticum*) on performance, intestinal microbial colonization, jejunal morphology, and immunocompetence of laying hens fed different n-6 to n-3 ratios. *Livestock Science*, *167*(1), 236-248. http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2014.05.006
29. Gheisari, A. A., Heidari, M., Kermanshahi, R. K., Togani, M., & Saraeian, S. (2007). Effect of dietary supplementation of protected organic acids on ileal microflora and protein digestibility in broiler chickens. In Proceedings of the 16th European Symposium on Poultry Nutrition. Strasbourg, France (pp. 519-522).
30. Gopi, M., Karthik, K., Manjunathachar, H. V., Tamilmahan, P., Kesavan, M., Dashprakash, M., Balaraju, B. L., & Purushothaman, M. R. (2014). Essential oils as a feed additive in poultry nutrition. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, *2*(1), 1-7. http://dx.doi.org/10.14737/journal.aavs/2014.2.1.1.7
31. Gordon, R. W., & Roland Sr, D. A. (1998). Influence of supplemental phytase on calcium and phosphorus utilization in laying hens. *Poultry Science*, *77*(2), 290-294. http://dx.doi.org/10.1093/ps/77.2.290
32. Harb, A. A., Bustanji, Y. K., Almasri, I. M., & Abdalla, S. S. (2019). Eugenol reduces LDL cholesterol and hepatic steatosis in hypercholesterolemic rats by modulating TRPV1 receptor. *Scientific Reports*, *9*(1), 1-10. http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-50352-4
33. Hernandez, F., Garcia, V., Madrid, J., Orengo, J., Catalá, P., & Megias, M. D. (2006). Effect of formic acid on performance, digestibility, intestinal histomorphology and plasma metabolite levels of broiler chickens. *British Poultry Science*, *47*(1), 50-56. http://dx.doi.org/10.1080/00071660500475574
34. Hu, Z., & Guo, Y. (2007). Effects of dietary sodium butyrate supplementation on the intestinal morphological structure, absorptive function and gut flora in chickens. *Animal Feed Science and Technology*, *132*(3-4), 240-249. http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.03.017
35. Ibrahim, D., Eldemery, F., Metwally, A. S., Abd-Allah, E. M., Mohamed, D. T., Ismail, T. A., Hamed, T. A., Al Sadik, G.M., Neamat-Allah, A.N., & Abd El-Hamid, M.I. (2022). Dietary eugenol nanoemulsion potentiated performance of broiler chickens: Orchestration of digestive enzymes, intestinal barrier functions and cytokines related gene expression with a consequence of attenuating the severity of E. coli O78 infection. *Frontiers in Veterinary Science*, *23*(9), 1-17. http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2022.847580
36. Imran, M., Ahmed, S., Ditta, Y. A., Mehmood, S., Khan, M. I., Gillani, S. S., Rasool, Z., Sohail, M. L., Mushtaq, A., & Umar, S. (2018). Effect of microencapsulated butyric acid supplementation on growth performance, ileal digestibility of protein, duodenal morphology and immunity in broilers. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, *69*(3), 1109-1116.
37. Iqbal, H., Rahman, A., Khanum, S., Arshad, M., Badar, I. H., Asif, A. R., Hayat, Z. & Iqbal, M. A. (2021). Effect of essential oil and organic acid on performance, gut health, bacterial count and serological parameters in broiler. *Brazilian Journal of Poultry Science*, *23*(3), 1-10. http://dx.doi.org/10.1590/1806-9061-2021-1443
38. Irani, M., Gharahveysi, S., Zamani, M., & Rahmatian, R. (2011). The effect of butyric acid glycerides on performance and some bone parameters of broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, *10*(59), 12782-12788. http://dx.doi.org/10.5897/AJB11.1148
39. Jouany, J. P., & Morgavi, D. P. (2007). Use of 'natural' products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. *Animal*, *1*(10), 1443-1466. http://dx.doi.org/10.1017/S1751731107000742
40. Kamal, A. M., & Ragaa, N. M. (2014). Effect of dietary supplementation of organic acids on performance and serum biochemistry of broiler chicken. *Nature and Science*, *12*(2), 38-45. http://dx.doi.org/10.4061/2010/479485
41. Krauze, M., Cendrowska-Pinkosz, M., Matuseviĉius, P., Stępniowska, A., Jurczak, P., & Ognik, K. (2021). The

effect of administration of a phytobiotic containing cinnamon oil and citric acid on the metabolism, immunity, and growth performance of broiler chickens. *Animals*, *11*(2), 399. http://dx.doi.org/10.3390/ani11020399

42. Lan, R. X., Li, S. Q., Zhao, Z., & An, L. L. (2020). Sodium butyrate as an effective feed additive to improve growth performance and gastrointestinal development in broilers. *Veterinary Medicine and Science*, *6*(3), 491-499. http://dx.doi.org/10.1002/vms3.250
43. Leeson, S., Namkung, H., Antongiovanni, M., & Lee, E. H. (2005). Effect of butyric acid on the performance and carcass yield of broiler chickens. *Poultry science*, *84*(9), 1418-1422. http://dx.doi.org/10.1093/ps/84.9.1418
44. Mahdavi, R., & Torki, M. (2009). Study on usage period of dietary protected butyric acid on performance. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, *8*(9), 1702-1709.
45. Mahrous, H. S., El-Far, A. H., Sadek, K. M., & Abdel-Latif, M. A. (2017). Effects of different levels of clove bud (*Syzygium aromaticum*) dietary supplementation on immunity, antioxidant status, and performance in broiler chickens. *Alexandria Journal for Veterinary Sciences*, *54*(2): 29-32. http://dx.doi.org/10.5455/ajvs.272231
46. Marcu, A., Vacaru-Opriş, I., Dumitrescu, G., Ciochină, L. P., Marcu, A., Nicula, M., Peţ, I., Dronca, D., Kelciov, B., & Mariş, C. (2013). The influence of genetics on economic efficiency of broiler chicken's growth. *Animal Science and Biotechnologies*, *46*(2), 339-346.
47. Micciche, A. C., Foley, S. L., Pavlidis, H. O., McIntyre, D. R., & Ricke, S. C. (2018). A review of prebiotics against *Salmonella* in poultry: current and future potential for microbiome research applications. *Frontiers in Veterinary Science*, *5*(191), 1-11. http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2018.00191
48. Mohammadbagheri, N., & Najafi, R. (2014). 'The effect of citric acid and phytase on performance, blood lipid profile, immune system and some carcass characteristics of broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 6(2), 131-139. (In Persian). http://dx.doi.org/10.22067/ijasr.v6i2.27800
49. Mohammadi, Z., Ghazanfari, S., & Moradi, M. A. (2014). Effect of supplementing clove essential oil to the diet on microflora population, intestinal morphology, blood parameters and performance of broilers. *European Poultry Science*, 78, 51-59. http://dx.doi.org/10.1399/eps.2014.51
50. Mohammadpour, A. A., Kermanshahi, H., Golian, A., Gholizadeh, M., & Gilani, A. (2014). Evaluation of varying levels of acid-binding capacity of diets formulated with various acidifiers on physical and histological characteristics of leg bones in broiler chickens. *Comparative Clinical Pathology*, *23*(5), 1409-1420. http://dx.doi.org/10.1007/ s00580-013-1798-1
51. Monir, M. M., Hiramatsu, K., Nishimura, K., Takemoto, C., & Watanabe, T. (2014). Distribution of glucagon-like peptide (GLP)-2-immunoreactive cells in the chicken small intestine: antigen retrieval immunohistochemistry. *Journal of Veterinary Medical Science*, *76*(4), 565-568. http://dx.doi.org/10.1292/jvms.13-0513
52. Moquet, P. C. A., Salami, S. A., Onrust, L., Hendriks, W. H., & Kwakkel, R. P. (2018). Butyrate presence in distinct gastrointestinal tract segments modifies differentially digestive processes and amino acid bioavailability in young broiler chickens. *Poultry Science*, *97*(1), 167-176. http://dx.doi.org/10.3382/ps/pex279
53. Moustafa, N., Aziza, A., Orma, O., & Ibrahim, T. (2020). Effect of supplementation of broiler diets with essential oils on growth performance, antioxidant status, and general health. *Mansoura Veterinary Medical Journal*, *21*(1), 14-20. http://dx.doi.org/10.21608/MVMJ.2020.21.103
54. Nezhady, M. A. M., Zabihi, S. L., & Kalhori, M. M. (2011). Effect of different level of butyric acid glycerides on performance and serum composition of broiler chickens. *World Journal of Zoology*, *6*(2), 179-182.
55. Nouri, M., Ghorbani, M. R., Tatar, A., & Mehrnia, M. A. (2018). Effect of clove essential oil nanoemulsion on performance of broiler chickens fed diet based on wheat. *Animal Production*, *20*(2), 315-327. http://dx.doi.org/10.22059/jap.2018.254359.623268
56. Ogwuegbu, M., Oyeagu, C., Edeh, H., Dim, C., Ani, A., & Lewu, F. (2021). Effects of sodium butyrate and rosemary leaf meal on general performance, carcass traits, organ sizes and nutrient digestibility of broiler chickens. *IRANIAN JOURNAL OF APPLIED ANIMAL* Sciences, *11*(2), 365-379. http://dx.doi.org/20.1001.1.2251628.2021.11.2.18.2
57. Olgun, O. (2016). The effect of dietary essential oil mixture supplementation on performance, egg quality and bone characteristics in laying hens. *Annals of Animal Science*, *16*(4), 1115-1125. http://dx.doi.org/10.1515/aoas-2016-0038
58. Onyango, E. M., Hester, P. Y., Stroshine, R., & Adeola, O. (2003). Bone densitometry as an indicator of percentage tibia ash in broiler chicks fed varying dietary calcium and phosphorus levels. *Poultry Science*, *82*(11), 1787-1791. http://dx.doi.org/10.1093/ps/82.11.1787
59. Panda, A. K., Rao, S. V., Raju, M. V. L. N., & Sunder, G. S. (2009). Effect of butyric acid on performance, gastrointestinal tract health and carcass characteristics in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *22*(7), 1026-1031. http://dx.doi.org/10.5713/AJAS.2009.80298
60. Park, J., Kim, M., Kang, S. G., Jannasch, A. H., Cooper, B., Patterson, J., & Kim, C. H. (2015). Short-chain fatty acids induce both effector and regulatory T cells by suppression of histone deacetylases and regulation of the mTOR–S6K pathway. *Mucosal Immunology*, *8*(1), 80-93. http://dx.doi.org/10.1038/mi.2014.44

61. Paul, S. S., Rama Rao, S. V., Hegde, N., Williams, N. J., Chatterjee, R. N., Raju, M. V. L. N., Reddy, G. N., Kumar, V., Phani Kumar, P. S., Mallick, S., & Gargi, M. (2022). Effects of dietary antimicrobial growth promoters on performance parameters and abundance and diversity of broiler chicken gut microbiome and selection of antibiotic resistance genes. *Frontiers in Microbiology*, *16*(13), 1-19. http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2022.905050
62. Pham, V. H., Kan, L., Huang, J., Geng, Y., Zhen, W., Guo, Y., Abbas, W., & Wang, Z. (2020). Dietary encapsulated essential oils and organic acids mixture improves gut health in broiler chickens challenged with necrotic enteritis. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *11*(1), 1-18. http://dx.doi.org/10.1186/s40104-019-0421-y
63. Sabbieti, M. G., Agas, D., Maggi, F., Vittori, S., & Marchetti, L. (2011). Molecular mediators involved in Ferulago campestris essential oil effects on osteoblast metabolism. *Journal of Cellular Biochemistry*, *112*(12), 3742-3754. http://dx.doi.org/10.1002/jcb.23306
64. Sadeghiyan, Z., Kazemi fard, M., Rezaei, M., Jafarpour, S. A. (2023). Effect of encapsulated organic acids on intestinal microbial population, blood parameters, digestibility of nutrients, carcass characteristics and performance of broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(1), 77-92. http://dx.doi.org/10.22067/ijasr.2022.75043.1065
65. Salimian, A. M., Tabeidian, S. A., & Irandoust, H. (2016). Dietary effects of cinnamon, turmeric and carnation powders on performance, morphological changes of intestine and blood serum oxidation status of broilers. ANIMAL PRODUCTION, *18*(1), 141-150. http://dx.doi.org/10.22059/jap.2016.55235
66. SAS Institute. (2003). SAS user's guide: statistics. Version 7.0. Cary (NC): SAS Institute.
67. Sevim, B., & Cufadar, Y. (2021). Effects of essential oils and their combinations added to broiler diets on the mineral contents of some tissues and bone breaking strength. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego*, *17*(2), 1-12. http://dx.doi.org/10.5604/01.3001.0015.3121
68. Sikandar, A., Zaneb, H., Younus, M., Masood, S., Aslam, A., Khattak, F., Ashraf, S., Yousaf, M. SH., & Rehman, H. (2017). Effect of sodium butyrate on performance, immune status, microarchitecture of small intestinal mucosa and lymphoid organs in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *30*(5), 690-699. http://dx.doi.org/10.5713/ajas.16.0824 .
69. Souza, C. S., Vieites, F. M., Justino, L. R., Lima, M. F. D., Chaves, A. S., Minafra, C. S., & Lima, C. A. R. D. (2021). Orange essential oil in the diet of broilers: performance, organ biometrics, bone characteristics, and intestinal morphometry. *Revista Brasileira de Zootecnia*, *50*(78), 1-11. http://dx.doi.org/10.37496/rbz5020200097
70. Su, G., Wang, L., Zhou, X., Wu, X., Chen, D., Yu, B., Huang, Z., Luo, Y., Mao, X., Zheng, P., Yu, J., Luo, J., & He, J. (2021). Effects of essential oil on growth performance, digestibility, immunity, and intestinal health in broilers. *Poultry Science*, *100*(8), 101242- 101242. http://dx.doi.org/10.1016/j.psj.2021.101242
71. Świątkiewicz, S., Koreleski, J., & Arczewska, A. (2010). Effect of organic acids and prebiotics on bone quality in laying hens fed diets with two levels of calcium and phosphorus. *Acta Veterinaria Brno*, *79*(2), 185-193. http://dx.doi.org/10.2754/avb201079020185
72. Taherpour, K., Moravej, H., Shivazad, M., Adibmoradi, M., & Yakhchali, B. (2009). Effects of dietary probiotic, prebiotic and butyric acid glycerides on performance and serum composition in broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, *8*(10), 2329-2334. http://dx.doi.org/10.2141/jpsa.011031
73. Toghyani, M., Toghyani, M., Gheisari, A., Ghalamkari, G., & Mohammadrezaei, M. (2010). Growth performance, serum biochemistry and blood hematology of broiler chicks fed different levels of black seed (*Nigella sativa*) and peppermint (*Mentha piperita*). *Livestock science*, *129*(1-3), 173-178. http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2010.01.021
74. Torki, M., Mohebbifar, A., & Mohammadi, H. (2021). Effects of supplementing hen diet with *Lavandula angustifolia* and/or *Mentha spicata* essential oils on production performance, egg quality and blood variables of laying hens. *Veterinary Medicine and Science*, *7*(1), 184-193. http://dx.doi.org/10.1002/vms3.343
75. Van Immerseel, F., De Zutter, L., Houf, K., Pasmans, F., Haesebrouck, F., & Ducatelle, R. (2009). Strategies to control Salmonella in the broiler production chain. *World's Poultry Science Journal*, *65*(3), 367-392. http://dx.doi.org/10.1017/S0043933909000027.
76. Vinolya, R. E., Balakrishnan, U., Yasir, B., & Chandrasekar, S. (2021). Effect of dietary supplementation of acidifiers and essential oils on growth performance and intestinal health of broiler. *Journal of Applied Poultry Research*, *30*(3), 100179. http://dx.doi.org/10.1016/j.japr.2021.100179
77. Weber, G. M., Michalczuk, M., Huyghebaert, G., Juin, H., Kwakernaak, C., & Gracia, M. I. (2012). Effects of a blend of essential oil compounds and benzoic acid on performance of broiler chickens as revealed by a meta-analysis of 4 growth trials in various locations. *Poultry Science*, *91*(11), 2820-2828. http://dx.doi.org//10.3382/ps.2012-02243
78. Wu, W., Xiao, Z., An, W., Dong, Y., & Zhang, B. (2018). Dietary sodium butyrate improves intestinal development and function by modulating the microbial community in broilers. *PLOS One*, *13*(5), e0197762. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0197762
79. Yildirim, B. A., Tunc, M. A., Gül, M., Yildirim, F., & Yıldız, A. (2018). The effect of Rosemary (*Rosmarinus*

officinalis L.) extract supplemented into broiler diets, on performance and blood parameters. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, *2*(3), 001-009. http://dx.doi.org/10.30574/gscbps.2018.2.3.0057

80. Yin, F., Yu, H., Lepp, D., Shi, X., Yang, X., Hu, J., & Gong, J. (2016). Transcriptome analysis reveals regulation of gene expression for lipid catabolism in young broilers by butyrate glycerides. *PLOS One*, *11*(8), e0160751. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0160751
81. Zhang, B., & Coon, C. N. (1997). The relationship of various tibia bone measurements in hens. *Poultry Science*, *76*(12),1698-1701. http://dx.doi.org/10.1093/ps/76.12.1698
82. Zhao, X., Zheng, S., Wei, S., Tian, Q., Tao, Y., Bo, R., & Li, J. (2022). The protective effect and potential mechanisms of eugenol against Salmonella *in vivo* and *in vitro*. *Poultry Science*, *101*(5), 101801. http://dx.doi.org/10.1016/j.psj.2022.101801
83. Zhou, Z. Y., Packialakshmi, B., Makkar, S. K., Dridi, S., & Rath, N. C. (2014). Effect of butyrate on immune response of a chicken macrophage cell line. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, *162*(1-2), 24-32. http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2014.09.002